

*tBioCare*TM DNA Extraction Kit

Short Protocol - Swab & Solid Samples



استخراج DNA از سواب و سایر نمونه های جامد

در این پروتکل، مراحل استخراج DNA از سواب و نمونه های جامد مانند لکه ی خون خشک، کارتهای خون، سلولهای از قبل تغلیظ شده، پوست و سایر بافت ها، فولیکول مو و ناخن شرح داده می شود.

قبل از شروع:

- مطمئن شوید که آماده سازی بافر CL طبق دستورالعمل صفحه ۳ کتابچه راهنما انجام شده باشد.
- ترموبلاک (ترمومیکسر) را بر روی ۹۵ درجه سانتیگراد تنظیم کنید.
- در صورتیکه نیاز به استفاده از پروتئیناز K دارید، ترموبلاک (ترمومیکسر) دوم را بر روی ۶۰ درجه سانتیگراد تنظیم کنید. (برای توضیحات بیشتر به صفحه ی ۱۳ کتابچه راهنما ی کیت مراجعه کنید)

پروتکل:

۱- با توجه به ماهیت نمونه خود با یکی از دو روش زیر مراحل استخراج را شروع کنید:

الف - در صورتیکه نمونه با سواب تهیه شده است، آن را به مدت ۵ ثانیه در ۱۰۰ تا ۵۰۰ میکرولیتر از بافر CL بچرخانید و به دیواره های تیوب بفشارید تا محتوای سواب آزاد شود.

ب- در صورتیکه نمونه ی مورد آزمایش جامد است، مانند رسوب سلولی، فولیکل مو و یا بیوپسی بافت، ۱۰۰ تا ۵۰۰ میکرو لیتر بافر CL به نمونه اضافه کنید.

نکته: حجم ایلوت به نوع و اندازه نمونه بستگی دارد. حجم کمتر، غلظت DNA را افزایش می دهد اما به همان نسبت مقدار مهارکننده های احتمالی نیز افزایش می یابد.

۲- ذرات مگنتیک E1 را به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس کنید تا به طور کامل یکنواخت شوند. مقدار ۳۰ میکرولیتر از ذرات مگنتیک E1 را به نموه اضافه کنید و به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس کنید تا به خوبی مخلوط شوند.

۳- لوله حاوی نمونه را به مدت ۵ تا ۱۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتیگراد قرار دهید. در صورتیکه از ترمومیکسر استفاده می کنید، آن را بر روی حداکثر سرعت قرار دهید. اگر از ترموبلاک معمولی استفاده می کنید هر دقیقه نمونه را ورتکس کنید.

نکته: برای توصیه های مربوط به زمان انکوباسیون به جدول صفحه ی بعد مراجعه کنید.

۴- نمونه را از ترموبلاک (ترمومیکسر) برداشته و به مدت ۵ ثانیه ورتکس کنید. لوله را به مدت ۱۰ ثانیه سانتریفیوژ کنید تا تمام محلول های متصل به دیواره و یا درب لوله به انتهای لوله منتقل شوند.

۵- نمونه را به مدت ۱ دقیقه بر روی رک مگنتیک قرار دهید تا ذرات مگنتیک به جداره لوله متصل شوند.

۶- بدون برداشتن لوله از روی رک، درب لوله را باز کرده و محلول شفاف شده را به یک لوله ی تمیز منتقل نمایید.

۷- می توانید DNA استخراج شده را تا ۲ ساعت در یخچال نگهدارید. در صورتی که آزمایش بعدی با DNA استخراج شده با فاصله ی بیشتر از ۲ ساعت انجام می شود، DNA استخراج شده را در دمای ۲۰- ذخیره کنید.

*tBioCare*TM DNA Extraction Kit

Short Protocol - Swab & Solid Samples



توصیه های کاربردی برای پروتکل شماره ۱

سلول های انسانی و حیوانی	باکتری گرم منفی	باکتری گرم مثبت	قارچ	انگل	کرم	ویروس	
سواب خشک	5 min/95°C	10 min/95°C	15 min/95°C + Proteinase K	10 min/95°C + Proteinase K	10 min/95°C	15 min/95°C	5 min/95°C
لکه ی خون خشک							
کارت های خون							
سلول های از قبل تغلیظ شده							
پوست و بافت	10 min/95°C + Proteinase K	10 min/95°C + Proteinase K	10 min/95°C + Proteinase K	10 min/95°C + Proteinase K			
فولیکل مو	10 min/95°C + Proteinase K	10 min/95°C + Proteinase K	10 min/95°C + Proteinase K				
ناخن							